SÔBRE OS LATICÍFEROS FOLIARES DE FICUS RETUSA

por

F. R. MILANEZ
Chefe da Secção de Botânica Geral

Os tubos de látex presentes nas espécies do gênero *Ficus* são, sem discrepância, classificados, inclusive pelos autores modernos, entre os não articulados ou contínuos (SCHAFFSTEIN: 24; SPERLICH: 28), do mesmo tipo dos que se encontram em *Euphorbia* (VAROSSIAU: 34). Isso significa que cada um dêles consistiria em uma única célula, dotada de crescimento indefinido. Recentemente (16) procurei demonstrar que nas hastes de *Euphorbia phosphorea* cada tubo é, ao invés, constituído de muitas células fusionadas; na mesma ordem de idéias, tentarei provar que também nas fôlhas de *Ficus retusa,* v. *nítida* são multicelulares os laticíferos.

Surgiu o presente estudo do exame de preparações microscópicas de botões foliares da mencionada planta, onde os fenômenos tão controvertidos da formação dos tubos apareciam sob nova luz que tornava unívoco o processo ontogenético.

Observações outras, particularmente sôbre a galactogênese, pareceram-me igualmente dignas de serem trazidas a público. Precedendo cada grupo de observações, há curta revisão bibliográfica comentada.

* * *

Os cortes com 6-10μ de espessura foram executados com micrótomo rotatório de Spencer nas extremidades de ramos, fixadas pelas misturas de *Benda* ou de *Regaud* e incluídas em parafina de acôrdo com a técnica usual. Fizeram-se várias colorações combinadas que tinham sempre por base a da hematoxilina férrica.

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 10 11 12 13 14

I

A ontogênese dos laticíferos está ligada històricamente ao gênero *Ficus* — pois foi em *F. benghalensis* que se descreveu pela primeira vez, a formação dêsses tubos. Proviriam êles, segundo UNGER (7) (31) (32), de células cilíndricas sobrepostas em fileiras, no parênquima medular, cujas paredes separadoras desapareceriam por fim. O mesmo Autor, todavia, quinze anos mais tarde, quando publicou sua *Anotomie und Physiologie der Pflanzen* (39) já modificara seu conceito de laticífero. Mantendo, ainda, essas formações entre as resultantes de fusões celulares, admitia a existência de um tipo (ou grau de diferenciação) constituído de células muito longas: "*Ein dritte Form erscheint als sehr langgestreckte, cylindrische, hie und da angeschwollene und sparsam verzweigte Schläuche, deren Enden in unermessbare Spitzen auslaufen oder sich mit andern vereinigen und verschmelzen*" (pág. 159). E justamente aqui enquadrava os tubos de *Ficus* spp. provàvelmente em conseqüência das críticas, que começaram com MEYEN (12) e SCHLEIDEN (25), dos que insistiam sôbre a ausência de paredes transversais nos referidos tubos.

Também para as conclusões de um ANÔNIMO (1) que tanta repercussão alcançaram na época, contribuíram as observações efetuadas em mais de uma dezena de espécies de *Ficus*. Duas dessas conclusões ainda hoje merecem atenção. A primeira traduz um conceito que atualmente nos parece extravagante, mas que naquele tempo granjeou as simpatias de vários botânicos, inclusive do próprio SCHLEIDEN: "*In seinem Ursprunge ist das Milchgefass ein Gang im Zellgewebe, dessen Wandungen nicht von eigenen Haut, sondern blos von den umgebenden Zellen gebildet werden*". Representa êle a ingênua interpretação de observações repetidas por diversos botânicos. Com efeito, como antes já ressaltei (16), é freqüente que o protoplasta, ao fusionar-se com o laticífero, dissolva parcialmente suas próprias paredes laterais, ao tempo em que dissolve as que o separavam do sincício. Compreende-se, pois, que os autores antigos, ainda incapazes de reconhecer o protoplasta em tôdas as oportunidades, tenham pensado em "canal intercelular". Foi provàvelmente êsse mesmo fato que deu a SCHMALHAUSEN (27) a ilusão de que as extremidades jovens dos laticíferos ocupavam os espaços intercelulares.



A segunda conclusão, ainda hoje inatacável, diz respeito à precocidade da diferenciação laticífera: "*Das Milchgefass ist eines der allerfrühesten Elementarorgane der Pflanze*". É possível, todavia, que tal precocidade seja mais aparente que real, significando, antes, a possibilidade de precocemente se perceber a mencionada diferenciação, relativamente à dos outros elementos, à vista das transformações muito peculiares das células atingidas. Seja como fôr, também nas fôlhas de *Ficus retusa* v. *nitida*, como será exposto adiante, aparecem células laticíferas antes de se poderem caracterizar, por exemplo, os elementos condutores do lenho e do liber.

Mesmo na ausência de recursos adequados da microtécnica, manifestou-se entre os botânicos forte reação contra a mencionada concepção lacunar dos laticíferos, certamente sob a influência dos progressos constantes da teoria celular. Um dos criadores desta teoria, SCHLEIDEN, pareceu inicialmente adotar aquela concepção. No seu trabalho sôbre as Cactaceas (25) escrevia, com efeito: "*Mir erschienen in allen Fällen die Milchsaftgefässe in ihrem jüngsten Zustande* (*aus dem sie bei Rhus coriaria nie heraustreten*) *als erweiterte Intercellulargänge, in denen sich erst allmählig, aus dem in sie abgesonderten Safte, eine Membran organisirt*". Note-se, de passagem, que em *Rhus*, como também em *Mamillaria*, trata-se realmente de canal intercelular onde se acumula o látex. Mais tarde, quando da publicação de seu célebre "Grundzüge" (26), mostra-se, porém, muito menos categórico. A propósito dos vasos de látex diz que sua origem é obscura e já admite, embora como duvidosa, sua natureza celular: "*Milchsaftgefässe* (*vasa lactescentia*) *sind langgestreckte, häufig vielfach nach allen Richtungen hin verästelte Röhren* (*ob Zellen ist zweifelhaft*) ...". Além disso, descreve em outro item as células liberianas (fibras) das Apocinaceas e Asclepiadaceas, concluindo sua exposição com a afirmativa de que o conteúdo das mesmas é verdadeiro látex (pág. 264). Duas páginas adiante refere-se novamente a tais células chamando-as de "*Milchsaft führenden Bastzellen* — denominação que será depois usada por SCHACHT — terminando por assegurar que "*Die Configuration ihrer Wände ist ganz dieselbe, wie bei ächten alten Milchsaftgefässen*".

É fôrça convir que já está aqui em germe a concepção de SCHACHT enunciada pouco tempo depois (22): "*die vermeintlichen Milchsaftegefässe sind Milchsaft führende sich häufig verzweigende*



Bastzellen ...". Insiste ainda o Autor sôbre a natureza celular dos "vasos" laticíferos de *Euphorbia*, por causa da presença de grãos de amilo nos mesmos. Existe também no mesmo trabalho uma referência expressa ao gênero Ficus: "*Die sogenannten Milchsaft — Gefässe im Blatte von F. elastica sind ebenfalls verzweigte Milchsaft führende Bastzellen ...".* Êsses conceitos que hoje nos parecem tão estranhos, constam igualmente de seu livro publicado em 1852 (23); êles traduzem, no entanto, certo progresso pelo retôrno à teoria celular e resultaram da semelhança de coloração e de algumas outras propriedades observadas nas paredes dos laticíferos e das fibras liberianas.

Só bem mais tarde apareceram as teses premiadas de HANSTEIN (9) e DIPPEL (6) que apresentavam a formação dos laticíferos como decorrentes sempre da fusão de células: ressaltava-se, na primeira, que em certos casos (*Euphorbia*) a fusão era tão completa que dela não restavam quaisquer vestígios.

Na segunda, de DIPPEL, há um trecho que condensa as observações sôbre os laticíferos caulinares de *Ficus carica* (pág. 26): "*Ganz entscheiden dafür, dass diese anscheinenden Intercellulargänge wahre Zellen sind, spricht der Umstand dass man bei glücklichen Ausfalle des Schnittes, was, wie leicht einzusehen ist, immer vom Zufalle abhangt und die Anfertigung einer grosseren Anzahl von Längsschnitten voraussetzt quer über das Lumen derselben eine zarte Querscheidewand verlaufen zieht. Diese scheidet den Raum in zwei Abtheilungen respective Zellen, von denen die obere immer eine abgeschlossene Zelle bildet, welche in ihren Durchmesser den ungebenden Parenchymzellen siemlich gleichkömmt, dieselben aber an länge bald nur um wenig, bald aber auch um das zwei bis mehrfache übertrifft*".

Tôda a argumentação de DIPPEL a favor de sua tese celular está nessas poucas linhas: a presença de paredes transversais será depois contestada e com razão; é, além disso, muito problemático que com a técnica simples que usou, tenha podido reconhecer a célula meristemática a ser incorporada à extremidade jovem do laticífero; justo é conceder-lhe, entretanto, haja verificado que a extremidade em crescimento tem inicialmente a mesma largura que as células vizinhas, o que já constitui boa prova da sua tese. Esta, além de estabelecer que a organização dos laticíferos era a mesma nas diversas famílias, durante os primeiros períodos do de-



senvolvimento, a saber, *células dispostas em fileiras*, distinguia nos períodos subseqüentes dois tipos principais como será dito adiante.

A primeira contestação objetiva dessa uniformidade inicial dos laticíferos e que veio a ser o germe da concepção atual sôbre tais tubos, é devida a David (4). Nas pesquisas que empreendeu em várias plantas latescentes, inclusive *Ficus carica e F. elastica*, conseguiu êle pela maceração em lixivia de potassa de cortes longitudinais que compreendiam o meristema apical, isolar e preparar tubos laticíferos, mais ou menos alongados e ramificados que denominou "*Milchzellen*". Êste resultado se relaciona com o que antes se disse da dissolução das paredes: o sincício laticífero elabora depois uma parede própria, razão pela qual trechos mais ou menos longos dos tubos contínuos podem ser individualizados pela maceração química.

Como seria de esperar, David considerou cada um dêsses trechos como uma célula. Seu desenvolvimento se faria a partir de uma *inicial fusiforme*, mediante alongamento rápido em direção oposta à do meristema apical de que se originava e em seguida, na do primórdio foliar pelo qual se estenderia; seu comprimento seria ainda ampliado passivamente, pelo crescimento próprio do entrenó e da fôlha respectiva. Tais "células" teriam, em suma, o comprimento do entrenó acrescido do da fôlha, o que é uma insignificância comparado com o que precisariam ter as mesmas "células" em certas árvores, de acôrdo com a doutrina hoje em voga. Ramificações seriam emitidas, em todo o trajeto, e penetrariam nos espaços intercelulares vizinhos: suas extremidades, como as da própria "célula", permaneceriam fechadas, porém, e daí resultaria um sistema composto de unidades estanques, em desacôrdo com a realidade.

Os estudos ulteriores, decisivos para o estabelecimento da concepção ontogenética atual, tiveram por base embriões, principalmente de espécies de *Euphorbia*. Sua apreciação não cabe, pois, neste trabalho, mas será feita oportunamente.

* * *

1 — As observações ora relatadas efetuaram-se em seção transversal de uma gema que media cêrca de 1,2 mm de diâmetro (foto 1). Distinguem-se aí com facilidade, de fora para dentro, cortados transversalmente: duas estípulas, um primórdio foliar bem



desenvolvido, dois primórdios estipulares, um segundo primórdio foliar, muito jovem e o meristema apical. Aquêle primórdio foliar já possui lâmina com cêrca de 1,5 mm de largura e 0,093 mm (9 camadas de células) de espessura; na região mediana, mais espessa, correspondente à futura nervura principal, há tubos de látex dispostos na margem do líber, paralelamente a seus elementos condutores ainda mal diferenciados. De um dêstes tubos parte um ramo que após curto trajeto no plano do corte, bifurca-se. Para melhor examiná-lo consulte-se a *foto 2* que corresponde aproximadamente à região marcada pelo retângulo na *foto 1*. Em *e* começa o referido tubo; seus dois ramos estão assinalados em *1* e *2*. O primeiro é quase retilíneo e está situado no mesmo plano do tubo primitivo, aparecendo com êle na *foto 3*, de maior aumento que a anterior. Lateralmente a êste tubo, vêem-se dois protoplastas, *c* e *d*, que parecem prestes a serem por êle incorporados (V. Fig. 1). Na mesma *foto 3* percebem-se nìtidamente, em *1* e *2*, soluções de continuidade no sincício laticífero. Como foi dito em trabalho anterior (16), tais interrupções são conseqüência da retração do citoplasma, decorrente das operações microtécnicas; aparecem, naturalmente, nos pontos de menor resistência, ou seja, nos limites dos protoplastas que ainda não terminaram o processo de fusão.

O ramo n.º 2 (foto 2), após pequeno trecho aproximadamente perpendicular ao de n.º 1, muda de direção, tornando-se-lhe mais ou menos paralelo. As soluções de continuidade delimitam, no seu trajeto, dois protoplastas bem individualizados, visíveis em *a* e *b*, tanto nas *fotos 2* e *3* quanto na *fig. 1*.

Ainda há que notar, especialmente na *foto 3*, a dissolução parcial, localizada, das paredes laterais dos elementos que se fusionaram para constituir os três ramos laticíferos em foco.

2 — Os cortes longitudinais das gemas propiciaram também observações de valor para o estudo proposto. Uma das primeiras questões apreciadas foi a da precocidade da diferenciação laticífera.

A *foto 4* reproduz o aspecto da seção longitudinal, sensìvelmente mediana, de um rebento axilar. Aí se vêem, à direita ,três primórdios: no mediano, com apenas 5-6 camadas de células e cêrca de 50μ de espessura, já é nìtidamente perceptível um laticífero em formação (assinalado). Ocupa êle o têrço inferior do primórdio e se diferencia da base para o ápice do mesmo. Note-se, de passa-



gem, que ocorrem aqui as características já apontadas: o sincício plasmolizado apresenta soluções de continuidade e ocupa cavidades celulares (há vestígios de paredes separadoras) da mesma largura de certas células vizinhas.

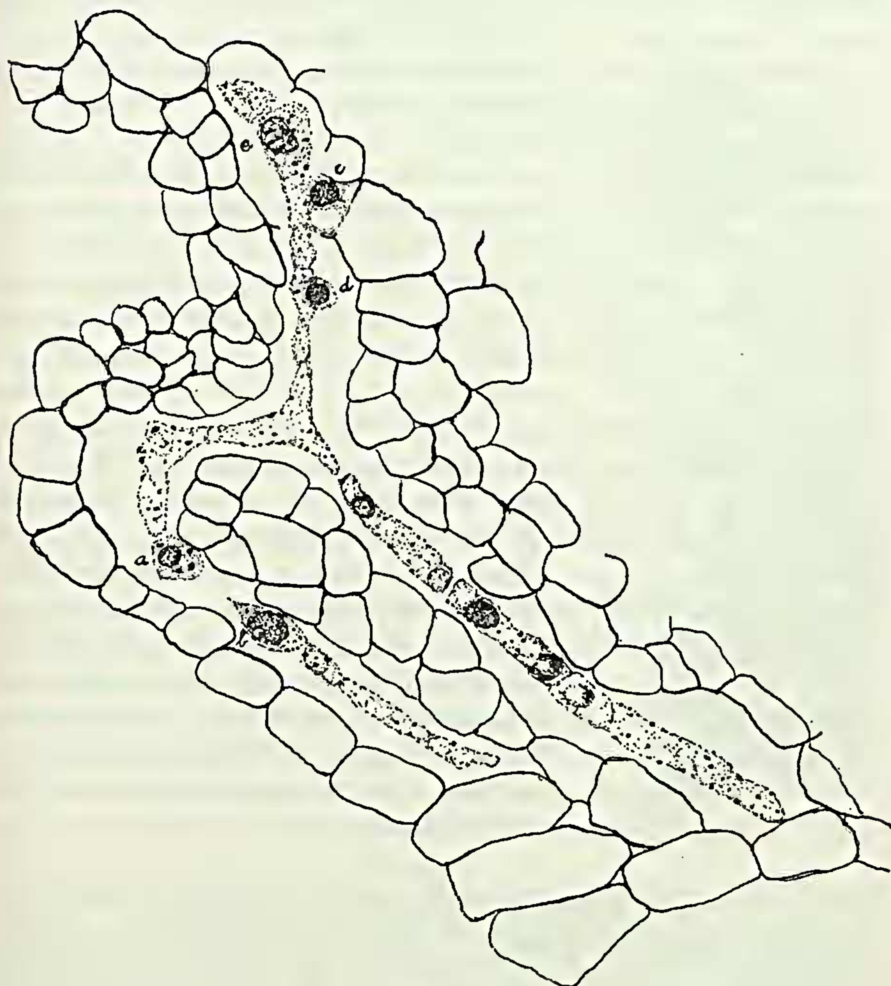
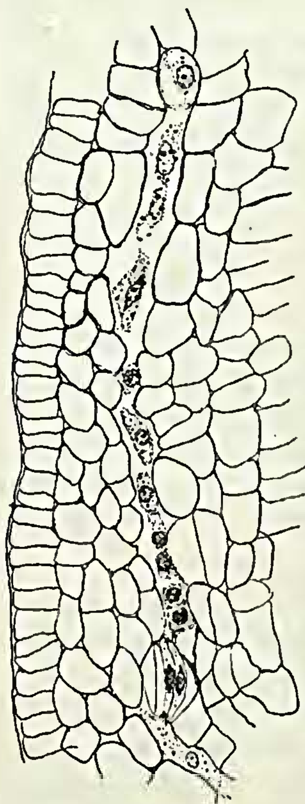


Fig. 1

Também precoce é a diferenciação que se assiste no corte longitudinal-oblíquo de um primórdio, reproduzido pela *foto 5*, do tubo laticífero que partindo da base (1), onde está em conexão com outro do caule (2), termina por uma extremidade fechada (3) — Devido à peculiaridade de se mostrar constituído êsse tubo, na

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

maior parte, de células cujos limites ainda são bem perceptíveis, convém examinar a referida foto ampliada (foto 6). Vemos aí, em *2* o laticífero do caule que pouco acima se bifurca: um ramo interno, muito curto, dirige-se ao promeristema; outro, externo, alcança a base do primórdio (1) onde entra em conexão com o tubo que lhe é próprio. Neste ramo caulinar há duas descontinuidades do sincício; depois da segunda, aparece bem individualizada uma célula (*a*). No primórdio, o laticífero entra em ligação com a referida célula (*a*) através dos elementos resultantes de divisões recentes (*1*). Vêm a seguir, outros elementos celulares cujos núcleos são ainda, na grande maioria, semelhantes aos das células vizinhas; nem sempre, porém, são visíveis os limites dos respectivos citoplasmas na *foto 6*. A *fig. 2* mostra de maneira semi-esquemática, tais células. Surge, depois, um protoplasta (b) bem individualizado, contido em cavidade ampla, cujos núcleo já começa a diferenciar-se. Seguem-se dois protoplastas de limites indecisos e núcleos alterados e, finalmente, a célula (3) que começa a ser incorporada ao laticífero: a parede separadora está quase inteiramente destruída, ao passo que permanece íntegra a da face oposta (t).


Fig. 2

3 — Dentre os corte longitudinais, alguns apresentam particular importância. Foram êles executados em uma gema onde a disposição especial de um primórdio foliar ocasionou o aparecimento inesperado de seções paradérmicas do mesmo, nas preparações microscópicas em exame. Tão expressivos para a ontogênese dos laticíferos eram os aspectos apresentados pelas referidas seções que deram causa ao presente trabalho. Trata-se de primórdio já bem desenvolvido: seu limbo, ainda flectido, mede aproximadamente 4,7 mm de comprimento e 0,17 mm de espessura, contando-se nesta 13 a 15 camadas de células. As seções observadas eram antes tan-

genciais-oblíquas que rigorosamente paradérmicas e deixavam ver diversas fases do desenvolvimento de numerosos ramos laticíferos, provenientes dos que percorrem as nervuras conspícuas.

Dois dêsses ramos aparecem na *foto 7*, em cuja parte inferior podem ser observados dois cistólitos em formação. Em ambos os laticíferos o sincício é pràticamente contínuo. Não obstante, certas minúcias morfológicas indicam claramente a origem multicelular. Assim, no inferior, a correlação entre as formas do conteúdo e da cavidade torna patente a existência de dois protoplastas, assinalados em *1* e *2*. No mesmo sentido falam, para o superior, as diferenças de coloração e as variações bruscas de diâmetro: pode-se afirmar terem existido os protoplastas independentes assinalados em *3*, *4* e *5*. Parece tratar-se em *6*, de um protoplasta ainda não completamente incorporado ao sincício. Note-se que em outros pontos dos mencionados sincícios existem os mesmos sinais, embora menos claros.

A *foto 8* mostra os laticíferos de uma nervura conspícua, atravessando o campo e emitindo ramificações para um e outro lado. Dessas a mais digna de interêsse é a que se dirige para baixo, à direita da mencionada foto. Seu trecho inicial não é visível por encontrar-se, certamente, em outro plano. Logo a seguir, porém, aparece a dita ramificação constituída de células, cujos limites ainda se entrevêm, dotadas de núcleos hipocromáticos. Surge, então, uma bifurcação: o ramo mais curto está fora de foco, (*1*) ao passo que o outro, que parece prolongar o primitivo, está perfeitamente visível (2). Neste os núcleos, ainda com o tamanho, forma e cromaticidade dos das células vizinhas, guardam entre si, as distâncias que guardariam naquelas. Além disso, às vêzes são visíveis os limites dos respectivos citoplasmas.

Vários laticíferos são mais ou menos visíveis na *foto 9*: assinalados (*a* e *a'*) aparecem no campo anastomoses dêsses tubos, assunto que será discutido adiante. Na constituição dos referidos tubos podem ser reconhecidos, com maior ou menor nitidez, vários protoplastas. Excepcional, entretanto, é o caso assinalado na foto, àcima e à direita: nesse trecho, o ramo mostra-se formado por três células bem distintas, embora já fusionadas, e por duas outras, livres, mas já indubitàvelmente comprometidas na diferenciação laticífera. Dadas as vantajosas condições de fixação e coloração,

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

foram executadas duas outras fotomicrografias com maior aumento, em dois planos próximos, para melhor estudo do processo de diferenciação. Na primeira, *foto 10*, estão focalizadas as três células fusionadas, ao passo que na seguinte, aparecem no foco as duas células livres. A *fig. 3* mostra tôdas num só plano. Vestígios das paredes que separam o primeiro protoplasta independente do segundo e dos três fusionados, na verdade pouco perceptíveis nas fotomicrografias, foram propositadamente acentuados nesse desenho.

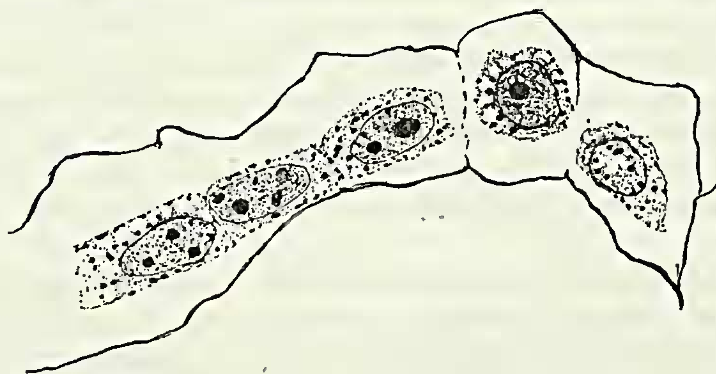


Fig. 3

Em rápido retrospecto das observações expostas é possível salientar os seguinte fatos:

a) ocorrência freqüente de soluções de continuidade no sincício laticífero; algumas são pequenas e poderiam ser interpretadas de modo vário; outras, porém, são maiores e separam elementos òbviamente celulares.

b) presença de células bem individualizadas na constituição do laticífero, ora isoladas, ora fusionadas.

Parece-me fora de dúvida que tais fatos não se coadunam com a teoria unicelular, ainda em voga, mas, antes, impõem a interpretação pluricelular, já proposta em trabalho anterior (16).

Um só argumento poderia ser invocado em contestação aos referidos fatos: não seriam laticíferos jovens as formações que estudei como tais. É claro inicialmente que essa objeção não se aplicaria às observações das *fotos 1-6* (cortes tranversais e longitudi-

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

nais) porque nas mesmas, a natureza laticífera das formações é garantida pela conexão visível entre estas e os tubos de látex já perfeitamente caracterizados — Restam os cortes paradérmicos onde nem sempre se vêem tais conexões. Se não bastassem as peculiaridades citológicas, seria suficiente considerar as topográficas para se reafirmar sua alegada natureza. A êsse respeito é muito elucidativa a *foto 12*: Aqui aparecem as referidas formações, com trajeto aproximadamente paralelo ao plano do corte, que pela sua morfologia e disposição foram estudadas e interpretadas como tubos jovens. Fato decisivo para comprovar sua natureza laticífera é o de alguns de seus ramos, como o que está assinalado, estenderem-se entre as células da hipoderme, à esquerda da foto, onde também se vêem numerosos cistólitos em desenvolvimento.

II

É curioso notar como têm sido debatidos certos fatos de observação, referentes a minúcias histológicas sem maior significação. Está nesse caso a ocorrência de anastomoses entre os laticíferos nas fôlhas de *Ficus* spp.

No já citado trabalho de DIPPEL (6) que mereceu o prêmio da "Academie des Sciences" em 1863, surge pela primeira vez a distinção entre os tubos que se ramificam, mas não se anastomosam, e os que se reúnem em retículo, sob as denominações de: "*1. einfache; 2. netzformig miteinander verbundene Milchsaftgefässe*. Dos primeiro dizia êle: '... *niemals aber mitelst Anastomosen zu ein Netze vereinigt sind*" (pág. 101); e acrescentava, mais adiante (pág. 102): "*Verästellungen begegnet man nur bei den einfachen Milchsaftgefässen der Euphorbiaceen, der Asclepiadeen und Apocyneen, sowie der Moreen in allen Theilen,...*".

Embora tenha sido geralmente rejeitada, como vimos anteriormente, a doutrina ontogenética de DIPPEL no que tange aos tubos não articulados, da distinção mencionada acima foi feito largo uso como característica essencial dos dois tipos de laticíferos, a tal ponto que já se encontra o trecho seguinte no tratado de DE BARY (5): "*Die ungegliederten Milchröhren zeigen in keinen sicher constatirten Falle Netzanastomosen, alle ihre oft sehr zahlreichen Verzweigen endigen blind*".

A verdade, porém, é que Dippel nunca pensou relacionar de maneira tão estrita as peculiaridades morfológicas dos 2 tipos de laticíferos com as espécies em que êles ocorrem. A prova está em sua afirmativa (pág. 103) de que ambos ocorrem lado a lado. *"Dagegen spricht ausserden auch schon der Umstand, dass beide nebeneinander vorkommen"* diz êle, procurando reforçar seu ponto de vista de que os dois tipos não constituem duas espécies de tubos inteiramente diferentes. Mais expressivo ainda é o fato de, a propósito dos tubos anastomosados em retículo, declarar (pág. 103): *"Ebenso kommen sie in den Blättern der Euphorbien vor"*.

Seja como fôr, a menção de anastomoses nos laticíferos não articulados tornou-se quase um tabú. Assim, dois anos apenas eram decorridos da comunicação de Mayus (11), em que êste estudava o trajeto e a distribuição dos tubos nas fôlhas de diversas *Apocynaceae, Asclepiadaceae, Moraceae,* etc., e apontava a ocorrência de anastomoses em várias espécies, inclusive de *Ficus* e já surgia o trabalho de Renner (21) onde tais observações eram contestadas. Após declarar nunca ter constatado a existência dessas anastomoses, dizia êle muito compenetradamente que Mayus, pretendendo tê-las observado, parecia não se aperceber de que se colocava em oposição a um conceito sòlidamente estabelecido há muito tempo. (*"Wenn Mayus solche bei Ficus elastica gesehen haben will, so scheint er sich nicht bewusst zu werden, dass er mit seiner Angabe einer seit lange als sicher begründet geltenden Anfassung entgegentrit"*). Alguns anos depois ainda refuta *Koketzsu* (10) as ditas observações, expressando-se do modo seguinte na primeira das conclusões de seu trabalho: *"Die Anastomosen, welche den gegliederten Milchröhren eigentümlich sind, werden nirgens in ungegliederten Milchröhren nachgewiesen, obwohl* Mayus *solche abgebildet hat"*.

No presente estudo houve excepcional oportunidade de se examinar ainda uma vez o assunto. Nos cortes finos do limbo do primórdio tantas vêzes citado, foi possível verificar a existência das tão discutidas anastomoses, ou antes, pôde-se assistir à sua formação ocasional.

O primeiro exemplo aparece na *foto 9*, já referida, nos pontos assinalados em *a* e *a'*, embora com pouca nitidez. A *foto 13* é bem mais expressiva: dois laticíferos (*1* e *1'*) destacam-se das respectivas nervuras e se bifurcam, anastomosando-se em (*a*) os ramos que

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

se defrontam, ao passo que os outros dois (*r* e *r'*) continuam livres. Notam-se também aí os cistólitos (*c*) em formação.

Caso muito interessante é o da *foto 14* obtida com grande aumento. Dois laticíferos de trajeto curvilíneo, *1 e 1'*, aproximam-se por fôrça dêsses mesmos trajetos e contraem anatomose em *a*, através de simples prolongamentos dos respectivos sincícios. O trajeto de *1* está oculto na porção inferior; na parte superior destaca-se um protoplasta bem individualizado em *1;* dois protoplastas já estão ìntimamente fusionados em 2, onde se vêem dois núcleos e nítidos galactoplastas em divisão. Pouco perceptível é a porção superior de *1'*; o protoplasta que participa da anastomose (*3*) ainda está bem individualizado.

III

A possibilidade da origem plastidial da borracha deve ter ocorrido a muitos dos que se habituaram a ver, nos plastas, a sede ideal para os fenômenos de condensação química. Havia, entretanto, uma primeira dificuldade: seria necessário supor-se um plastidoma extremamente rico, como até então não fôra observado, para que cada uma de suas unidades desse origem a um glóbulo. Além disso, diversos trabalhos, sobretudo os de Bobilioff e de Popovici, concluíam que a elaboração dos referidos glóbulos fazia-se diretamente pelo citoplasma. Aquêle pesquisador trazia a essa opinião o pêso de sua autoridade, ao passo que Popovici, colaboradora de Guilliermond, era acompanhada pelo eminente citólogo, uma das maiores autoridades em plastidoma, e por sua escola, nas conclusões da sua célebre comunicação (18): "... *même dans les cas qui paraissent aberrants, comme dans les laticifères, les essences se forment selon le mode ordinaire, dans le cytoplasme*".

Examinando-se, porém, mais de perto essa curtíssima contribuição, citada por todos os autores que versam o assunto, colhe-se a impressão de que sua importância tem sido provàvelmente exagerada. Em verdade, ela consta de duas partes diferentes, indevida e artificialmente relacionadas. Na primeira, são relatadas sucintamente as investigações com os corantes vitais nos pétalos muito jovens de *Chelidonium*: "*A cet age chaque cellule de la file des laticifères présente un vacuome caracteristique: de petites vacuoles*

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

rondes, rarement allongées, se colorant d'une manière diffuse, ou ayant quelquefois un précipité plus vivement coloré et animé de mouvements browniens (fig. 3 v.). *Le cytoplasme constitue donc un réseau dans les mailles duquel on aperçoit, grâce à leur refringence, les gouttelettes de résine entrainées par les courants cytoplasmiques* (fig. 3, e). *Une double coloration vitale au rouge neutre et au bleu d'indophenol permet de distinguer encore mieux ces deux formations différentes* (fig. 3)". Aspecto muito semelhante encontrei em um artículo laticífero do embrião de *Hevea brasiliensis* (13), com a diferença, porém, de que eu vi as partículas de látex animadas de movimentos brownianos e não apenas, deslocadas pelas correntes de citoplasma. Mais adiante será ressaltada a importância dessa modalidade de vacuoma.

Continua a Autora (18): "*Par la méthode de Regaud, l'individualité des vacuoles est conservée: les vacuoles apparaissent incolores dans le cytoplasme gris* (fig. e, p) *et ont souvent à leur intérieur un precipité coloré en noir* (fig. 4, v)". Incompreensìvelmente, segue a Autora, sem qualquer transição, sem mesmo fazer parágrafo: "*Chez les Ficus* (*F. carica, notamment*), *la vacuole centrale est unique et contient l'emulsion: la majorité des globules d'essence s'y trouve. Une fixation au Meves* (fig. 1) *nous revèle presque schématiquement la structure du laticifière: le cytoplasme* (*p*) *sous forme de sac, double les parois et contient des noyaux fusiformes* (n), *un chondriome* (m) *morphologiquement homogène, car les plastes élaborateurs d'amidon dans le cas des Euphorbes se confondent ici avec les mitochondries inactives; et enfin on y rencontre les gouttes de caoutchouc, qui tombent ulterieurement dans la vacuole* (*e*)".

É fácil perceber que esta parte está enxertada sôbre aquela. Com efeito, não se trata de coloração vital, nem, provàvelmente, de pétalos, e muito menos, de pétalos jovens, como naquela. Faltam indicações sôbre o órgão da planta e seu grau de desenvolvimento; não há também, referência ao método de coloração. A figura referida no texto não apresenta verossimilhança, reproduzindo aspecto visìvelmente artificial por fixação inadequada; é o que se conclui principalmente das formações volumosas e estranhas que aparecem no centro da cavidade do tubo. O que mais surpreende no caso em aprêço é que *Ficus carica, F. retusa, F. elastica,* etc. constituem material de eleição para se comprovar a origem plasti-

dial da borracha: nos glóbulos relativamente volumosos, o estroma abundante e corável só se reduz substancialmente nas últimas fases da galactogênese. Mesmo então, permanece sob a forma de resíduos que desde 1900 haviam sido caracterizados microquìmicamente como proteicos por WEBER (36).

Foram, sem dúvida, as considerações de FREY-WYSSLING (8) que provocaram as pesquisas recentes. Tendo em conta que os glóbulos de látex, ao invés da forma esferoidal das gotas habitualmente produzidas no citoplasma, possuem forma definida e mais ou menos específica, tal como o amilo e os carotenóides dos plastas; que sua estrutura é heterogênea, compreendendo um envoltório mais resistente que a porção interna, o qual pode ser caracterizado microquìmicamente como proteico, em numerosos casos; que mesmo quando não se consegue essa caracterização, é impossível eliminar dos glóbulos separados de serum, certo resíduo proteico; que, finalmente, na mesma planta, verifica-se comumente aumento progressivo do volume dos glóbulos à medida que ela se desenvolve — manifestava-se favoràvelmente à possibilidade de se formarem em plastas os citados glóbulos. Segundo ULMANN (29) já 4 e 5 anos depois surgiam os primeiros resultados tendentes a provar a participação dos plastídios na galactogênese, devidos a BOSSE (3), BLOCHINTZEWA (2) e PROKOFJEW (19). Seja como fôr, o trabalho bem fundamentado dêste último Autor apareceu em 1946 (20). Aí se relatavam seus estudos sôbre o "Tau-Saghyz", o "Kryn-Saghy" e o "Kok-Saghyz", com as principais conclusões seguintes: demonstração microquímica da natureza proteica da porção periférica dos glóbulos; verificação da notável semelhança entre essa porção periférica e o estroma dos amiloplastas, seja do ponto de vista citológico (inclusive dos métodos de coloração), seja do comportamento frente ao ácido acético e ao amoníaco.

No mesmo ano e desconhecendo completamente os resultados acima citados, publicava eu uma nota prévia sobre os laticíferos da seringueira (13) de cujas conclusões destaco a seguinte: "As gotas de hidrocarboneto originam-se em plastas cujas porção periférica persiste, depois de plenamente desenvolvidos, sob a forma de fina película proteica". Para confirmação dessa teoria plastidial, realizei mais tarde, pesquisas nos tubos de *Manihot glaziovii*, onde pude demonstrar a presença de condrioplastas, responsáveis pelos bastonetes de borracha característicos da citada planta (14). Pela



mesma ocasião (1949) apareceu o bem elaborado estudo de VRTAR (35), de que me ocuparei dentro em pouco. Finalmente, em 1951 publiquei novo trabalho sôbre os plastas produtores de borracha — para os quais propús a denominação de *Galactoplastas*, por constituírem categoria bem definida de plastídios — no embrião e nas estruturas primária e secundária de *Hevea brasiliensis* (15).

O trabalho de VRTAR (35) tem íntima relação com o presente, por ter sido realizado em *Ficus carica* e *F. elastica*. Seu principal objetivo foi demonstrar a sede plastidial da galactogênese, utilizando vários métodos de pesquisa. Induto fino de látex em lamínula foi fixado pelo formol a 10% e examinado ao microscópio; ou então, fixado pela solução saturada de ácido pícrico e colorido, seja pela rubina S, seja por esta e pela clorofila hidro-alcoólica; ou, ainda, submetido à solução de nitrato de prata. Em todos os casos foi pôsto em evidência o resíduo estromático dos glóbulos já desenvolvidos e apreciados os seus aspectos. Frutos jovens de *F. carica* fixados pelo formol a 10% serviram para o estudo dos estádios iniciais: os cortes finos foram coloridos pela rubina S.. Eis a principal conclusão do Autor: *'Je crois qu' on peut considerer comme un fait bien certain que le caoutchouc est d'origine plastidique"*.

* * *

Tendo tido ocasião de examinar numerosos cortes de fôlhas jovens de *F. retusa* var. *nitida,* com laticíferos em várias fases de desenvolvimento, julgo poder não sòmente confirmar os resultados de VRTAR, trazendo-lhes a documentação fotográfica que falta no trabalho citado, como também aduzir novos fatos dignos de nota, especialmente com referência às fases iniciais da diferenciação.

Com a primeira finalidade mencionada, preparei extensões de pequenas gotas de látex em lâminas, com auxílio de uma lamínula; sequei-as e fixei-as em mistura de Benda (20 minutos). Colori-as a seguir pela hematoxilina férrica.

A *foto 15* deixa ver três galactoplastas bem distintos numa extensão de gôta proveniente de uma fôlha muito jovem. Em *1* sòmente o estroma é visível, ao passo que em *2* começam a surgir os politerpenos na porção central do plasta; o resíduo estromático semi-lunar, pela posição excêntrica do glóbulo de borracha, ainda é muito nítido no galactoplasta *3*.


cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 10 11 12 13 14

Na *foto 16,* de uma extensão de gôta proveniente de fôlha quase adulta, há dois galactoplastas conspícuos :o de n.º 4 ainda possui resíduo estromático distinto e o de n.º 5, completamente desenvolvido, apenas deixa entrever êsse resíduo. As fotomicrografias foram feitas com o aumento de aproximadamente 2.000 vêzes.

Para os cortes em parafina, de material muito jovem, tanto o fixador de Benda quanto o de Regaud proporcionaram muito bons resultados. Do último é o material que forneceu os cortes das *fotos 17 e 18*. No da primeira, trata-se de fôlha jovem cortada transversalmente. Os galactoplastas apresentam aspectos semelhantes aos da *foto 15*: há, porém, aqui, ainda maior variedade de fases de formação. Algumas delas estão representadas na fig. 4. É fácil re-

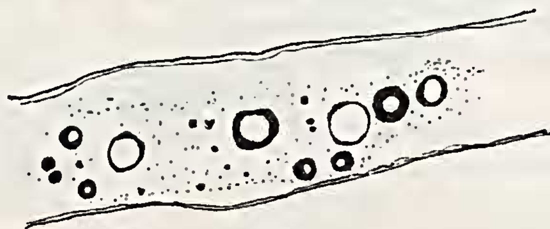


Fig. 4

constituir, à vista dessa foto, os estádios da elaboração da borracha do ponto de vista morfológico.

O corte da *foto 18* provém de fôlha muito mais jovem. Como se pode verificar fàcilmente, os galactoplastas abundantes e constituídos quase inteiramente de estroma, acham-se, na maioria, em fase de multiplicação, aparecendo freqüentemente aos pares. São ainda visíveis no campo microscópico um núcleo (*n*) mais ou menos íntegro e dois corpúsculos (*c*) de significação duvidosa, talvez núcleos degenerados. Em ambas as fotomicrografias ressaltam os vacúolos tanóides das células parenquimáticas.

Os estádios anteriores da diferenciação laticífera têm que ser investigados nos primórdios foliares. Convém, pois, retornar às *fotos 10 e 11*. Na primeira estão em foco as três células fusionadas (V. também fig. 3); os respectivos citoplasmas apresentam numerosos e pequeninos vacúolos e nas trabéculas que os separam, começam a surgir os galactoplastas, pelo desenvolvimento dos proplastídeos. A célula livre, intermediária, cujo núcleo está fora de foco, deixa ver à volta dêste, plastídios nítidos. Na *foto 11* estão em

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

foco as duas células livres e os respectivos núcleos; na primeira, intermediária, o citoplasma também se mostra finamente vacuolado; a segunda ostenta um núcleo hipocromático, parecendo haver perdido o nucléolo.

Outros aspectos dessas fases iniciais são expostos nas *fotos 19 e 20*. Na primeira foto não estão perfeitamente individualizados os protoplastas (fig. 5): há dois núcleos muito próximos (*2n*)

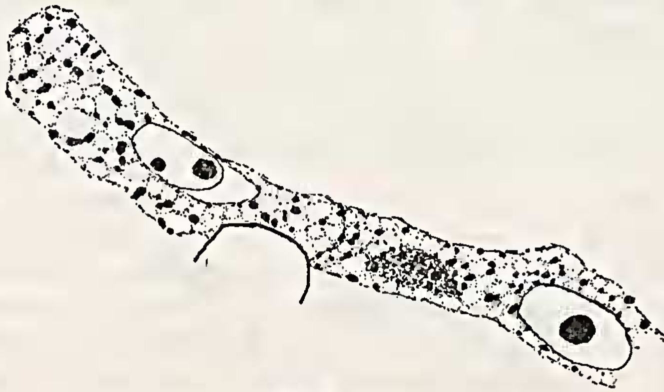


Fig. 5

talvez em processo de fusão; em *n* vê-se um núcleo em degeneração. Muito característico é o vacuoma, constituído de unidades minúsculas e numerosas. Os plastídios começam a crescer, observando-se já a divisão de alguns dêles. Provàvelmente menos avançada é a diferenciação nas células da *foto 20* (fig. 6). Os núcleos assemelham-se aos das células vizinhas, exceto na forma oblonga; os plastídios são pouco visíveis e o vacuoma ainda não assumiu o aspecto típico. Assinalado na mesma foto aparece um protoplasta próximo ao ramo laticífero em formação: seu vacuoma está subdividido; os pequenos cloroplastas parecem achar-se em regressão, com desaparecimento da clorofila e do amilo e diminuição do volume; uns poucos mostram sinais de divisão. Isso tudo parece indicar que se trata de elemento induzido para a diferenciação laticífera.

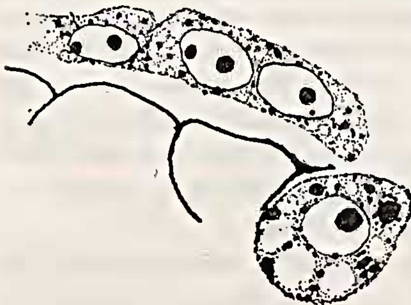


Fig. 6

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

À luz dos vários aspectos microscópicos é possível destacar os seguintes fatos marcantes no processo de diferenciação das células produtoras de látex nas fôlhas de *Ficus*:

a) Os núcleos sofrem diversas alterações que não foram estudadas, mas ocasionalmente apontadas.

b) Os citoplasmas se fusionam mais ou menos completamente depois que já existem os primeiros sinais citológicos da diferenciação, dos quais o mais geral e perceptível é a tendência à plasmolise pelos fixadores.

c) É bastante evidente, na maioria dos casos, desde o início, o desenvolvimento e a multiplicação dos galactoplastas. Quando a célula interessada já possuía pequenos cloroplastas, êstes regridem pela reabsorção da clorofila e do amilo e aumento correspondente do estroma. Vale a êsse propósito, ressaltar os resultados semelhantes observados na formação das ramificações dos tubos de *Euphorbia phosphorea* (17).

d) Outro fato constante é o da subdivisão do vacuoma. Apreciada, mediante coloração vital, por Popovici nos pétalos jovens de *Chelidonium* e por mim, no embrião de *Hevea* eu a considerei, desde logo, como etapa obrigatória da diferenciação laticífera, precedendo imediatamente a hidratação do citoplasma, característica da formação do látex. Na verdade, tenho encontrado êsse mesmo aspecto típico nas fases iniciais da diferenciação laticífera das várias plantas estudadas, sempre que o permitem as condições de fixação.

RESUMO

1. Observações efetuadas em gemas de *Ficus retusa* v. *nitida* revelaram que os laticíferos foliares, considerados geralmente como simples prolongamentos das "células laticíferas" do caule, são na realidade formações pluricelulares, à semelhança do que acontece com os tubos das hastes de *Euphorbia phosphorea* (16). Resultam êles da fusão de vários elementos meristemáticos.
2. Anastomoses ocasionais, primitivas, entre os tubos em desenvolvimento, foram comprovadas com segurança, nas fôlhas.
3. Verificou-se que o processo de diferenciação laticífera compreende alterações nucleares, subdivisão progressiva e desapare-

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

cimento final do vacuoma, individualização e multiplicação dos galactoplastas. Êstes são bem visíveis ao fim do desenvolvimento e secretam os hidrocarbonetos da borracha de modo a permanecer uma porção corável do estroma até quase a última fase da secreção.

ABSTRACT

1. Every "laticiferous cell" (*non-articulated laticifer*) of the leaves of *Ficus retusa* v. *nitida* is actually a composed structure. It arises, as in *Euphorbia phosphorea* stem (16) through the fusion of meristematic cells.
2. There appear in the foliar primordia occasional primitive anastomoses between the developing laticiferous tubes.
3. The galactoplastids are easily visible corpuscles which multiply actively before rubber secretion; the vacuome is subdivided in minute unities in the differentiating laticiferous cells.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1) Anônimo — "Die Milchsaftgefässe, ihr Ursprung und ihre Entwicklung. — Bot. Ztung. IV, 833-43; 849-59; 865-72. — 1846.

2) Blochintzewa, I. I. — (*citado por Ulmann*) — Physiologie und Biochemie Kautschuk führender Pflanzen — 1939.

3) Bosse, G. G. — Gelehrte Schr. Staatl. Univ. Moskau, 36: 223-256 — 1940 (citado por *Ulmann*).

4) David, G. — Über die Milchzellen der Euphorbiaceen, Moreen, Apocyneen und Asclepiadeen — Diss. Breslau, 1872.

5) De Bary, A. — Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne — Leipzig — 1877.

6) Dippel, L. — Entstehung der Milchsaftgefässe und deren Stellung in dem Gefässbündelsysteme der milchenden Gewächse — Rotterdam, 1865.

7) Endlicher, S. & Unger, F. — Grudzüge der Botanik — Wiener, 1843.

8) Frey-Wyssling, A. — Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen — Berlin — 1935.

9) Hanstein, I. — "Die Milchsaftgefässe, und die verwandten Organe der Rinde — Berlin, 1864.

10) Koketzu, R. — Studien über die Milchröhren und Milchzellen einiger einheimischer Pflanzen — The Bot. Mag. 27: 133-137 — 1913.



11) Mayus, O. — Beiträge über den Verlauf der Milchröhren in den Blättern — B.B.C. — I, 273 — 1905.

12) Meyen, F.G.F. — (*citado por Anônimo*) — Wiegmann's Archiv, 2 — 1838.

13) Milanez, F. R. — Nota prévia sôbre os laticíferos de *Hevea brasiliensis* Arq. Serv. Flor. 2 (2): 39-65 — 1946.

14) — "Segunda Nota sôbre os Laticíferos" — Lilloa, 16: 193-211 — 1949.

15) — Galactoplastas de *Hevea brasiliensis* — Arq. Jard. Bot. 11: 30-48 1951.

16) — Ontogênese dos laticíferos do caule de *Euphorbia phosphorea* Mart. Arq. Jard. Bot. 12: 17-35 — 1952.

17) — Origem das ramificações dos laticíferos do caule de *Euphorbia phosphorea* Mart. — Arq. Jard. Bot. XIII: 95-113 — 1954.

18) Popovici, H. — Contribution à l'étude cytologique des laticifères — Compt rend. Acad. Sc. 183: 143-145 — 1926.

19) Prokofjew, A. A. (*citado por Ulmann*) — Ver. Akad. Wiss. Ud S.S.R. (Abt. Mathem. u. Naturwiss., Ser. Biol.) 1939.

20) — O plastidnom proishozdeny kancuka Botaniceskij zurnal SSSR, Tom — 31, n.º 2 — 1946.

21) Renner, O. — Beiträge zur Anatomie und Systematik der Artocarpeen und Conocephaleen, insbesondere der Gattung Ficus — Englers Bot. Iahrb. 39: 319-448, 1907.

22) Schacht, H. — Die sogenannten Milchsaft-Gefässe der Euphorbiaceen u. s. w. sind Milchsaft führenden, nicht selten verzweigte Bastzellen — Bot. Zeit. IX — 513-21, 1851.

23) — Die Pflanzenzelle — Berlin — 1852.

24) Schaffstein, G. — Untersuchungen an ungegliederten Milchröhren — B.B.C. — I, 49: 197-220; 1932.

25) Schleiden, M. J. — "Beiträge zur Anatomie der Cacteen" — Mém. de l'Acad. Imp. de Sc. de St. Petesbourg, IV S. T. IV — 1839.

26) — Grundzuge der wissenschaftlichen Botanik — Leipzig; 1849 (3.ª ed.).

27) Schmalhausen, J. — Beiträge zur Kenntnis der Milchsaftbehälter der Pflanzen — Mém. de l'Acad. d. Sc. de St. Petesbourg. Série 7, T. 24 — n.º 2 — 1877.

28) Sperlich, A. — Das trophische Parenchym — B: Exkretionsgewebe — Berlin, 1934.

29) Ulmann, M. — Wertvolle Kautschukplanzen des gemässigten Klimas — Berlin, 1951.

30) Unger, F. — Aphorismen — Wien, 1838 — pg. 14.

31) — "Ueber Kriystallbildungen in Pflanzen". Ann. d. Wiener Museum d. Naturg. 1840. pg. 10-11.



32) — Anatomie und Physiologie d. Pflanzen — Pest: Wien, Leipsig — 1855.

33) VAROSSIEAU, W. W. — Rubber, Getah — Pertja en Balata Leverende Gewassen — Houtinstitut T. N. O. te Delft — Hoofdstuk 3.

34) VRTAR, B. — Morfologia i plastidogeni postanak Rancu — kovih zrnaca kod smokve (Ficus carica) i gumijevca (Ficus elastica). Acta Botanica — Inst. Bot. Univ. Zagrebensis, 12-13: 165-193 — 1949.

35) WEBER, C. O. — (citado por Ulmann) — Ber. Dtsch. Chem. Ges. 33 — 1900; 35 — 1902; 36 — 1903; Gummi Ztg. 18-19 — 1904.



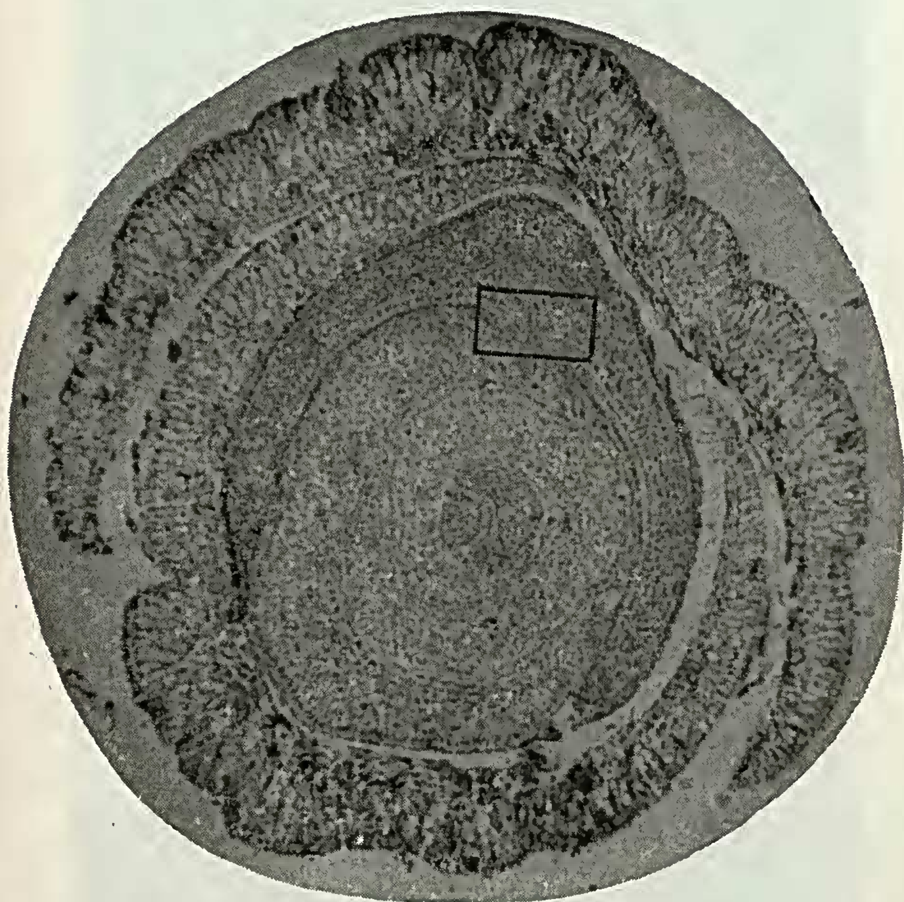


FOTO 1

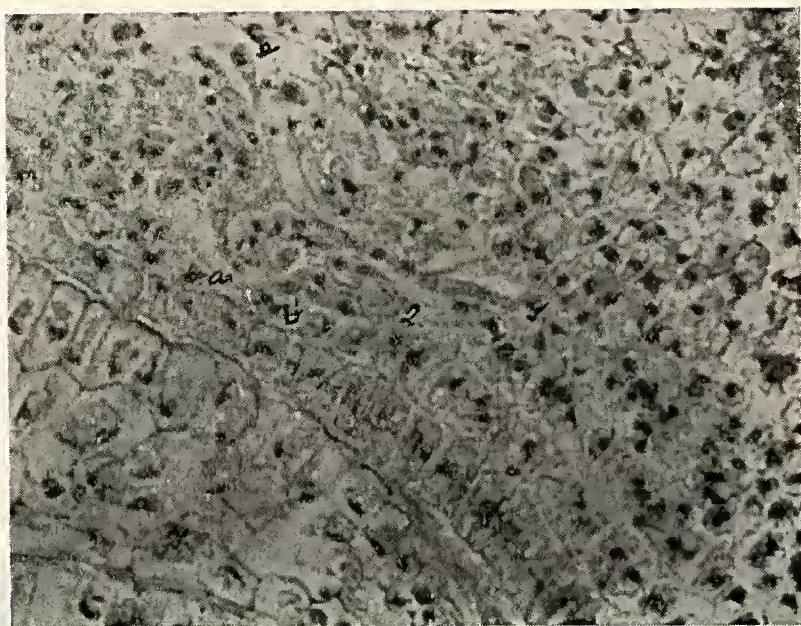


FOTO 2

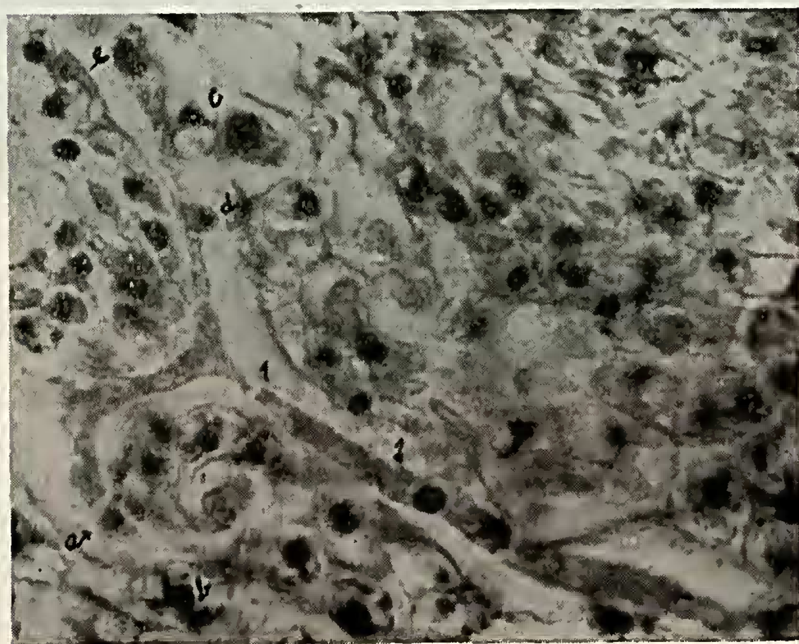


FOTO 3

SciELO/JBRJ

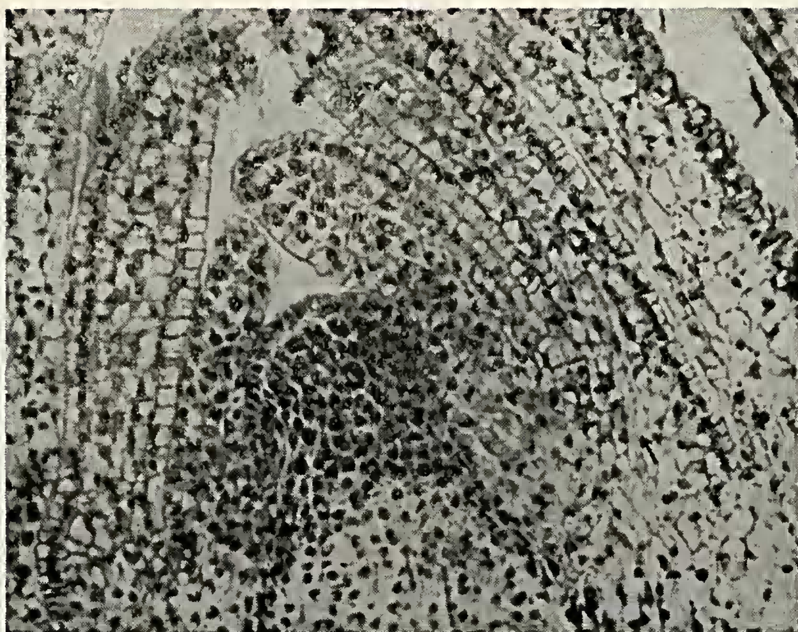


FOTO 4



FOTO 5

SciELO/JBRJ

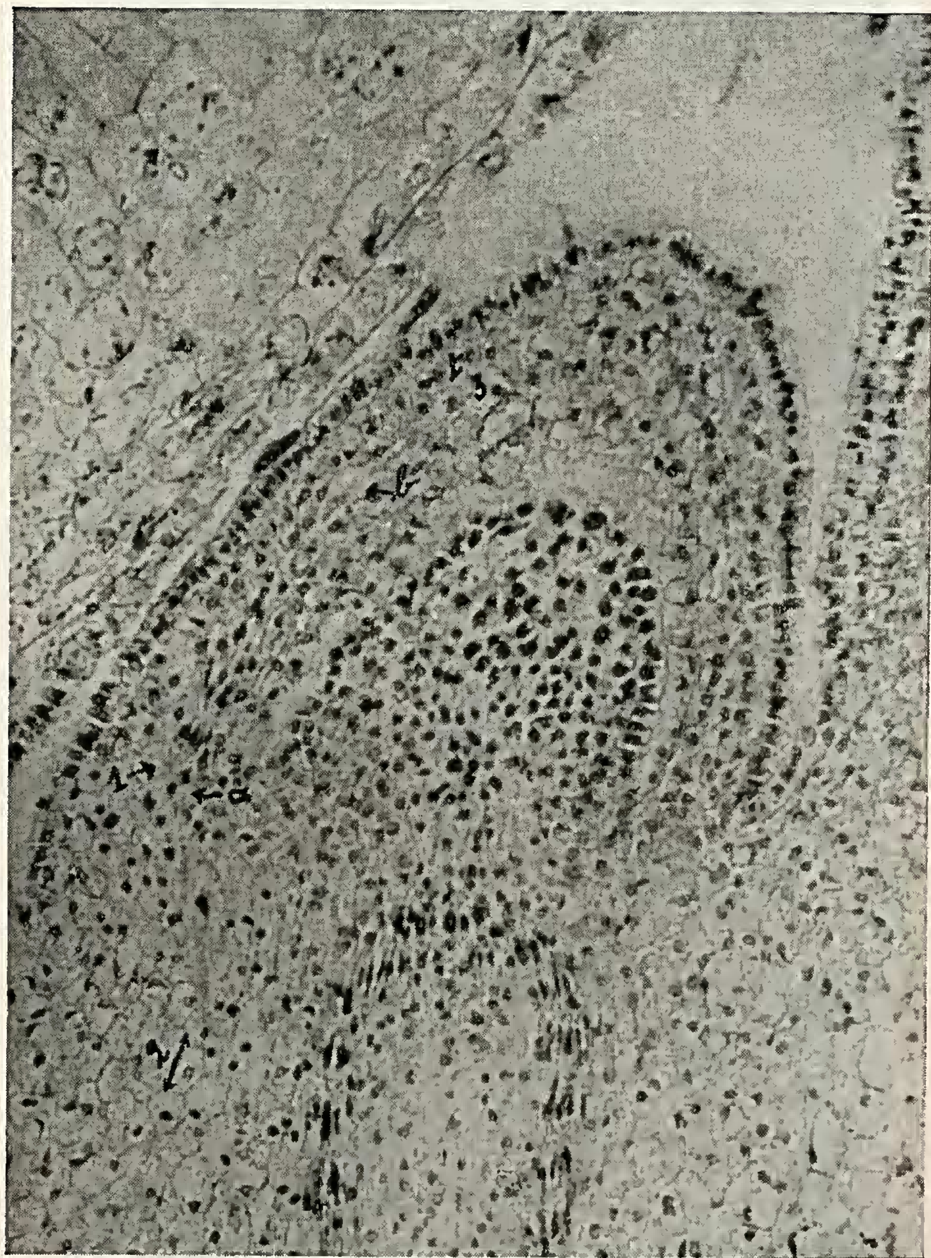


FOTO 6

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14 15



FOTO 7

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

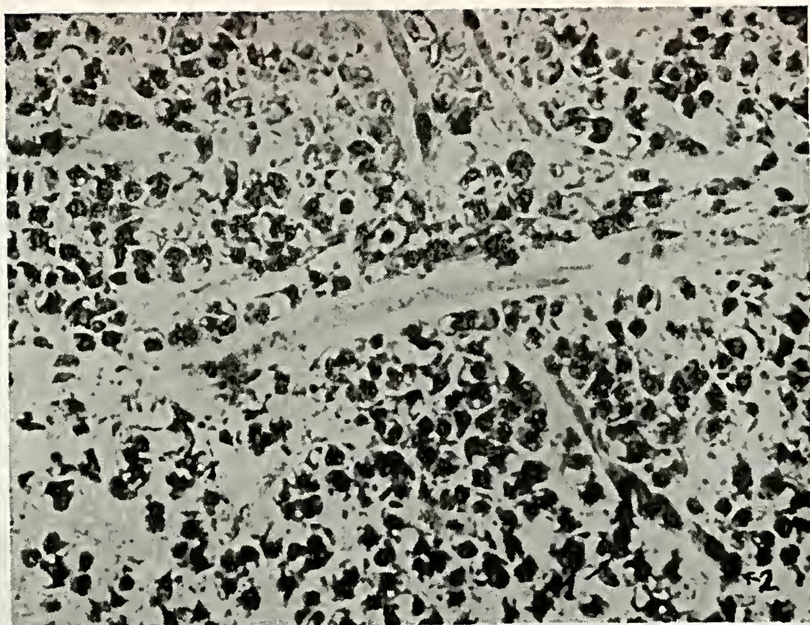


FOTO 8

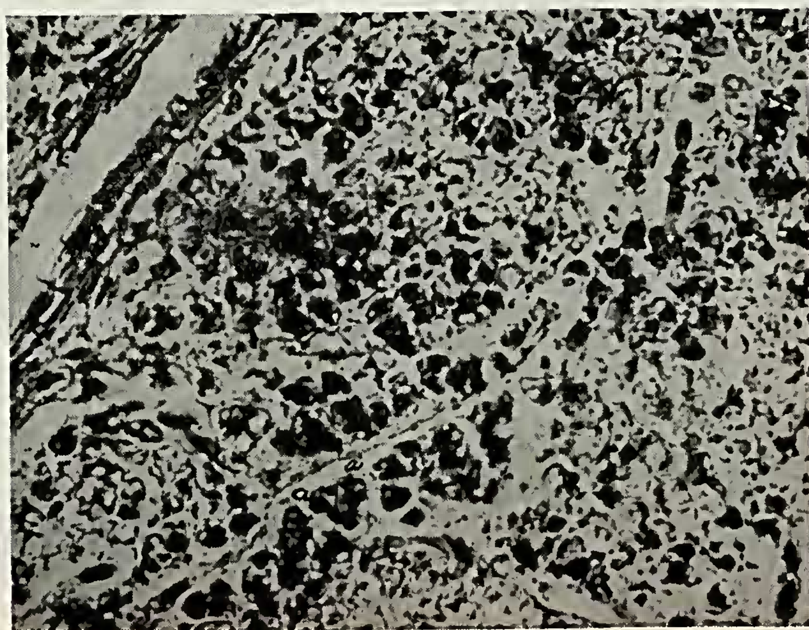


FOTO 9

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

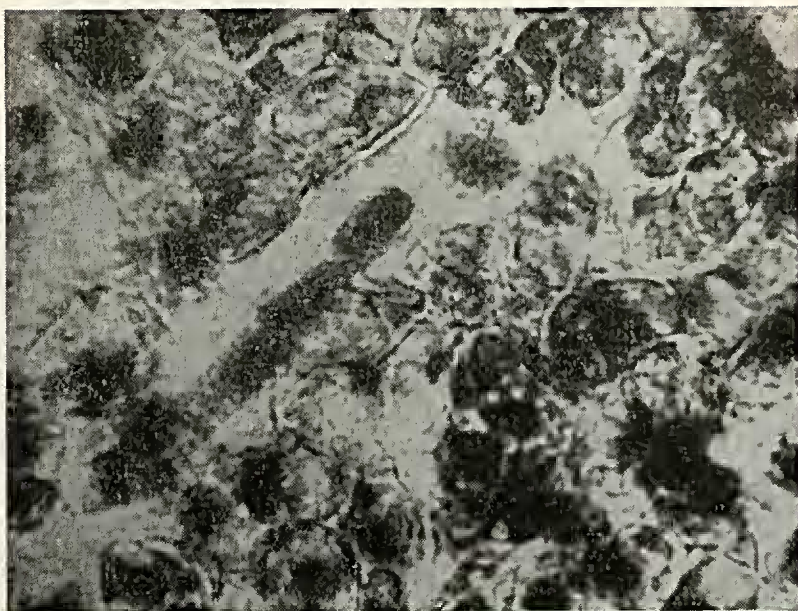


FOTO 10

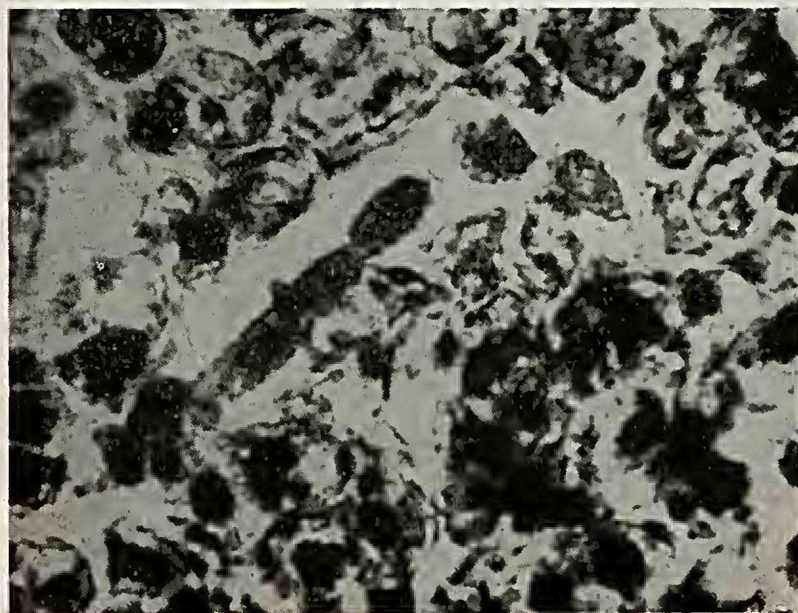


FOTO 11

SciELO/JBRJ

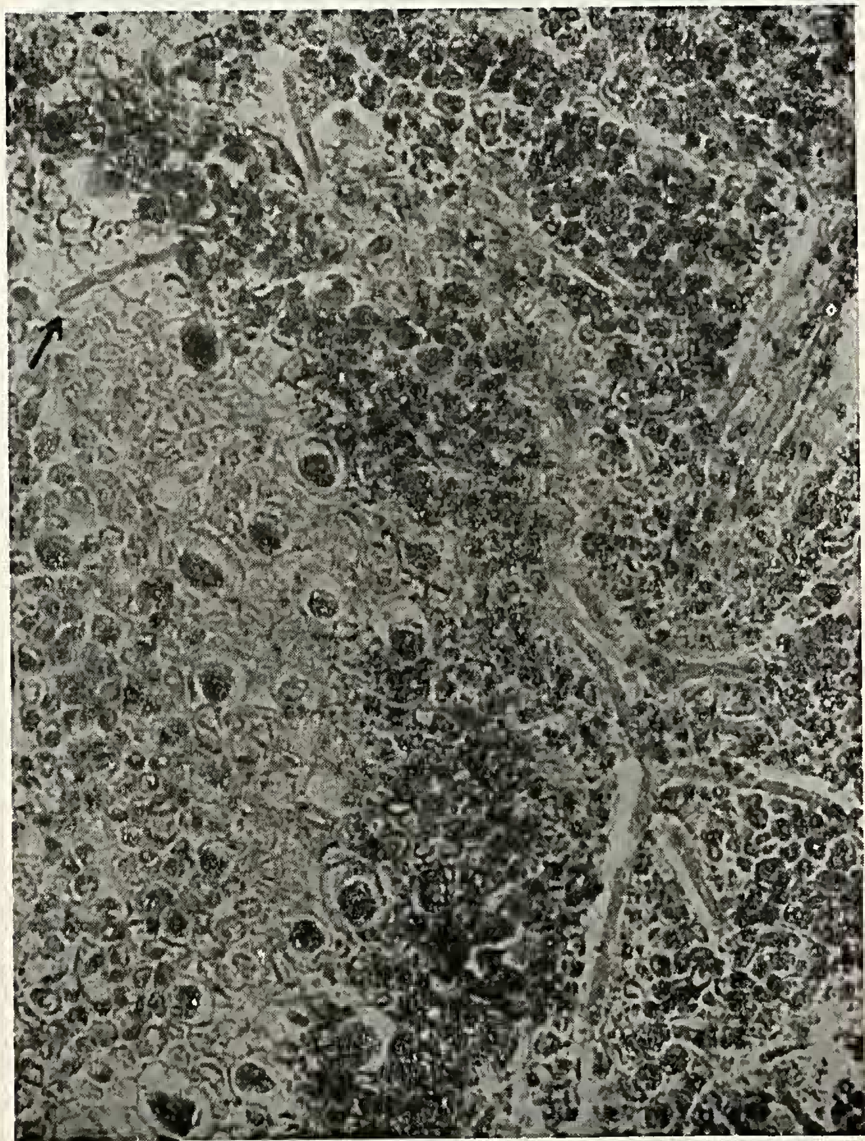


FOTO 12

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 11 12 13 14

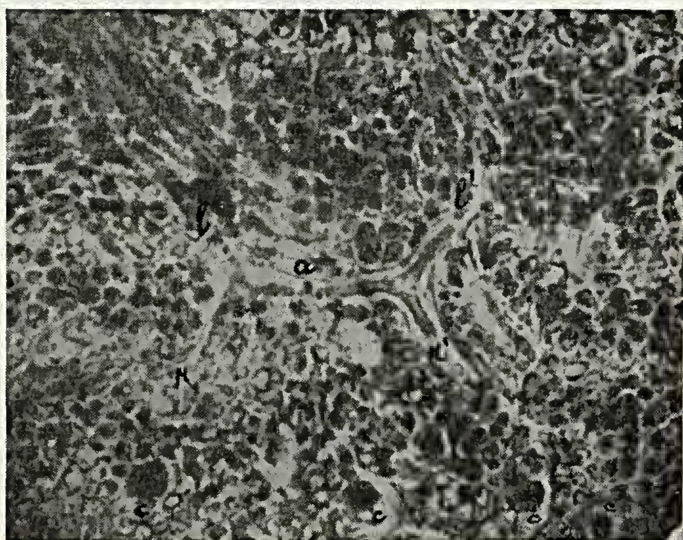


FOTO 13

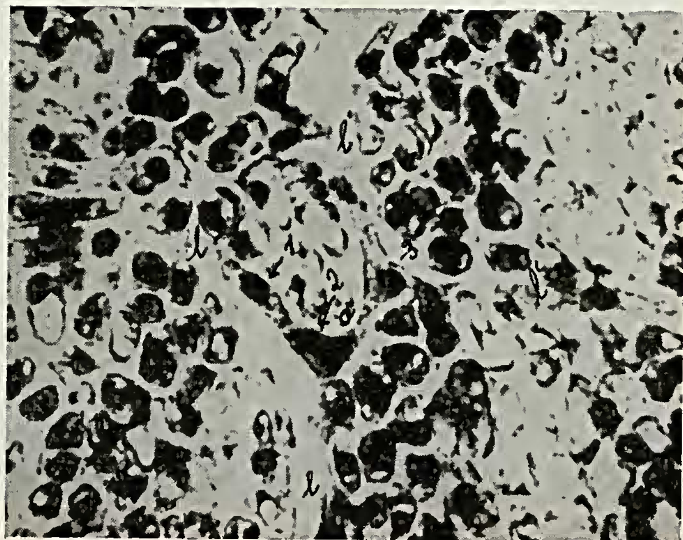


FOTO 14

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 10 11 12 13

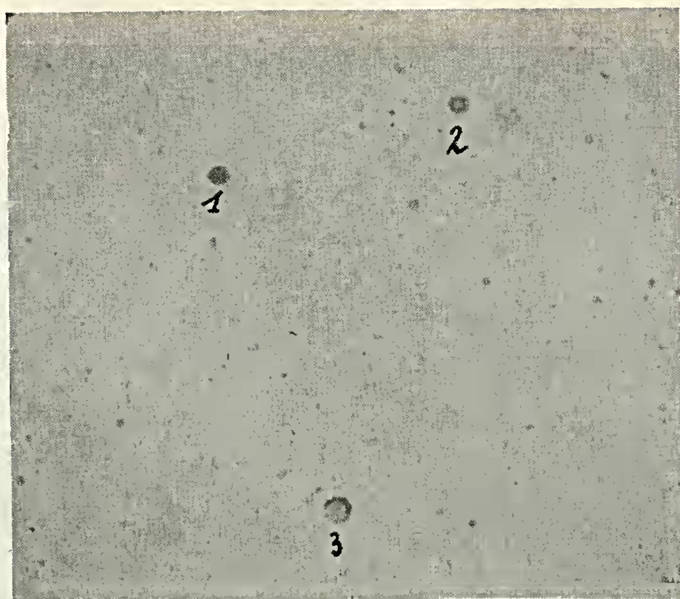


FOTO 15

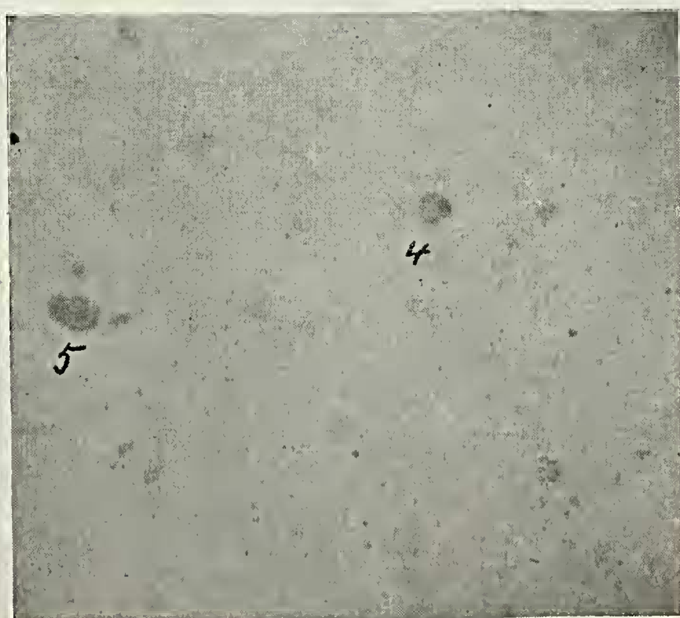


FOTO 16

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 10 11 12 13 14

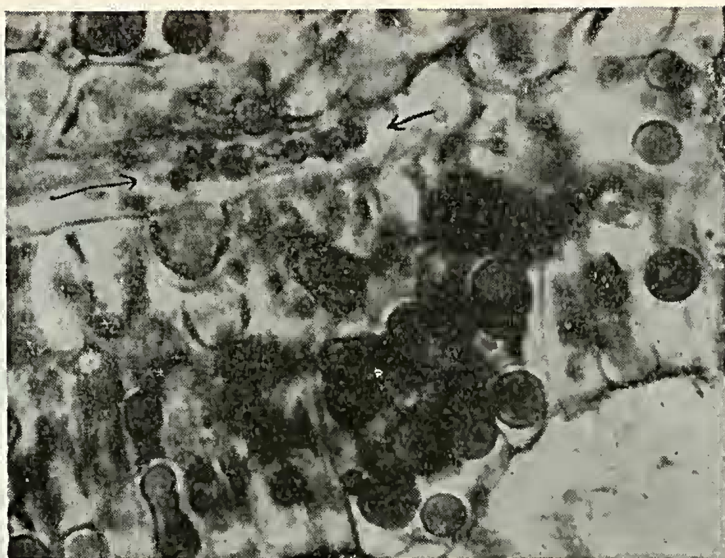


FOTO 17

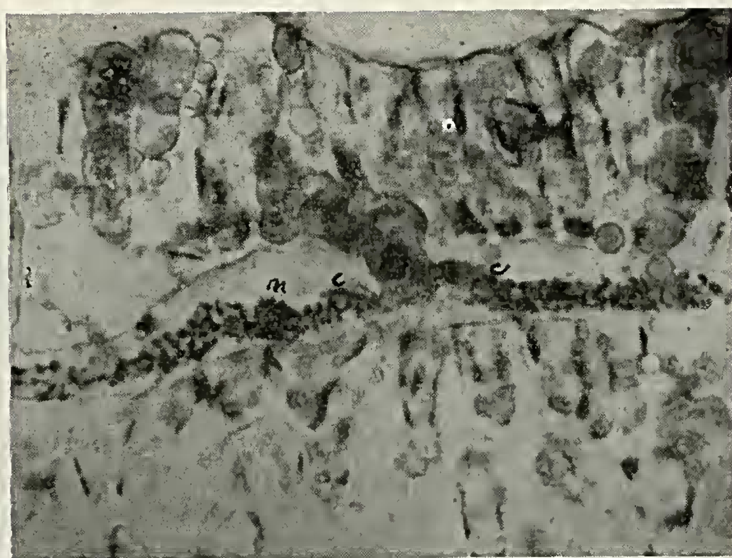


FOTO 18

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 10 11 12 13

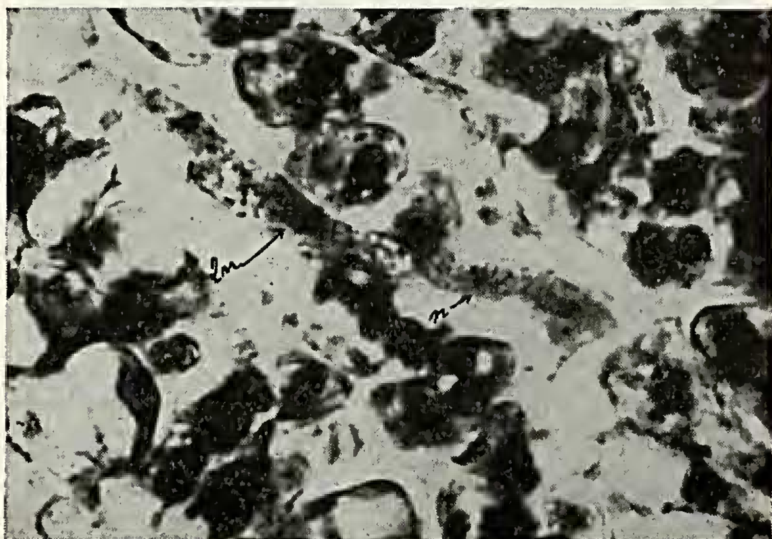


FOTO 19

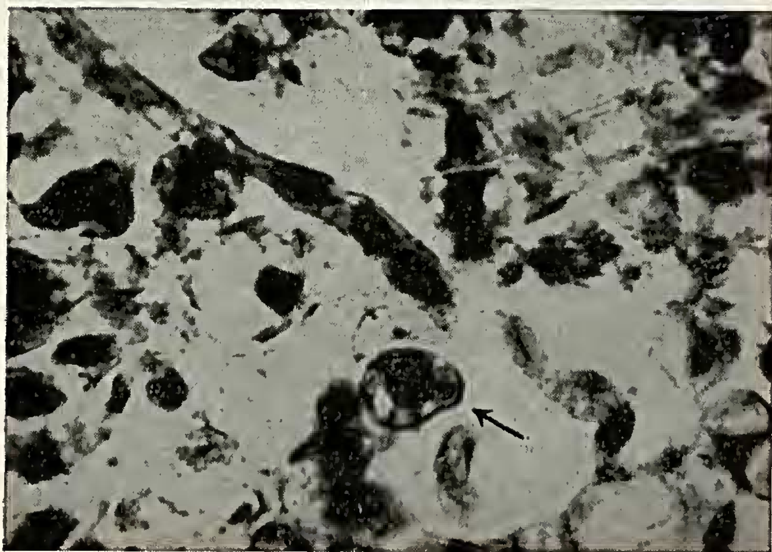


FOTO 20

cm 1 2 3 4 SciELO/JBRJ 10 11 12 13